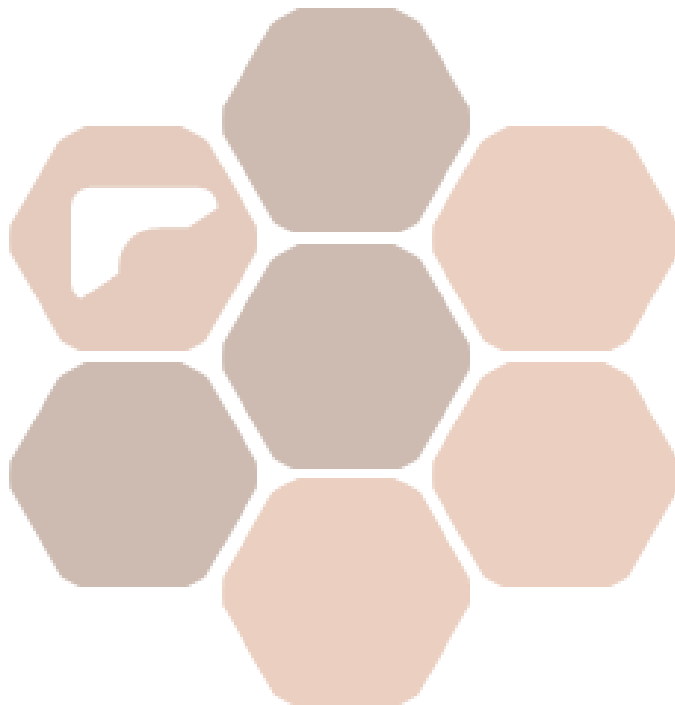


PXB-cells LA



もくじ

はじめに.....	1
PXB-cells LA の特長	1
製品仕様.....	2
使用する機器・試薬	2
PXB-cells LA のお取り扱い.....	2
維持培養.....	3
分析培養.....	4

はじめに

PXB-cells LA をお買い上げいただき有難うございます。

PXB-cells LA の脂質プロファイルを維持し、研究にご活用いただくため、本書をよく読み、正しくご使用ください。

なお、PXB-cells LA は研究目的以外には使用できません。

PXB-cells LA の特長

PXB-cells LA (Lipid Analysis) はヒト肝細胞キメラマウスから、コラゲナーゼ灌流により回収した新鮮肝細胞 (PXB-cells[®]) を脂質代謝研究にご使用いただくことが可能な *in Vitro* モデルです。PXB-cells LA は納品後から最大 2 週間、高い脂質代謝機能を有し、培養上清中に新鮮ヒト肝細胞と同じ脂質プロファイルを示します。または納品後から 1 週間の細胞は、ヒト脂肪肝細胞に類似した巨大な脂肪滴が細胞内に確認されるとともに、高レベルのコレステロールおよびトリグリセリド (中性脂肪) の細胞内蓄積が見られ、ヒト脂肪肝モデル (特許第 7039045 号) としてご使用いただくことが可能です。

ヒト肝細胞キメラマウス :

ドナーに対する適正なインフォームド・コンセントが得られていることを確認したヒト肝細胞を使用して生産しています。

コラゲナーゼ灌流 :

肝臓の結合組織をコラゲナーゼで分解し、肝実質細胞を回収します。播種直前の細胞生存率は 80% 以上です。

脂質プロファイルについての参考文献 :

Hata K, Tomatsu S, Takahashi M, Sasaki A, Umekawa Y, Miyashita K, Ogura K, Toshima G, Maeda M, Takahashi J, Kakuni M. Lipoprotein profile and lipid metabolism of PXB-cells[®], human normal hepatocytes from liver-humanized mice. *Biomedical Research (Tokyo)*. 2020 Feb; 41 (1): 33-42.

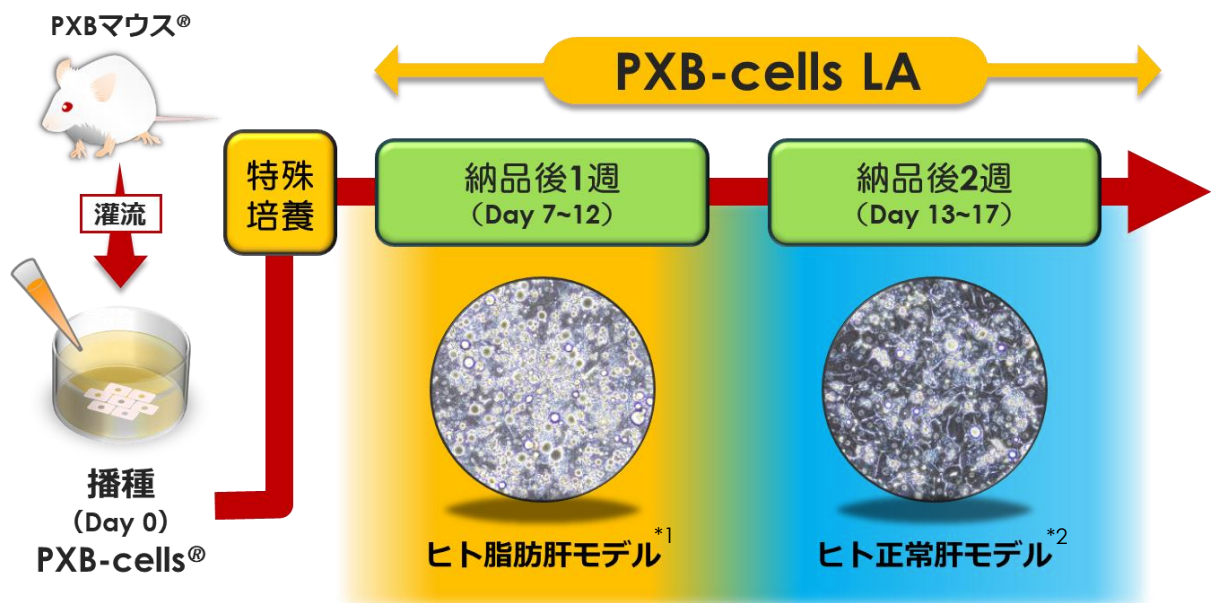


図 1 : 播種後の PXB-cells LA の状態

*1 : ヒト脂肪肝モデルとしてご使用いただく場合、納品直後でのご使用をお勧めしております。

*2 : ヒト正常肝モデルとしてご使用いただく場合、納品 7 日付近でのご使用をお勧めしております。

製品仕様

PXB-cells LA (脂質研究用新鮮肝細胞プレート)

播種細胞数 : 4×10^5 cells/well

使用する機器・試薬

<機器>

CO₂ インキュベーター (庫内条件を 5%CO₂, 37°C に設定ください)

<試薬>

PXB-cells 用培地 (製品番号 : PPC-M100 または PPC-M200)

William's E Medium no Phenol Red (A1217601 : Thermo Fisher Scientific) 相当品

Primary Hepatocyte Maintenance Supplements (CM4000 : Thermo Fisher Scientific)

PXB-cells LA のお取り扱い

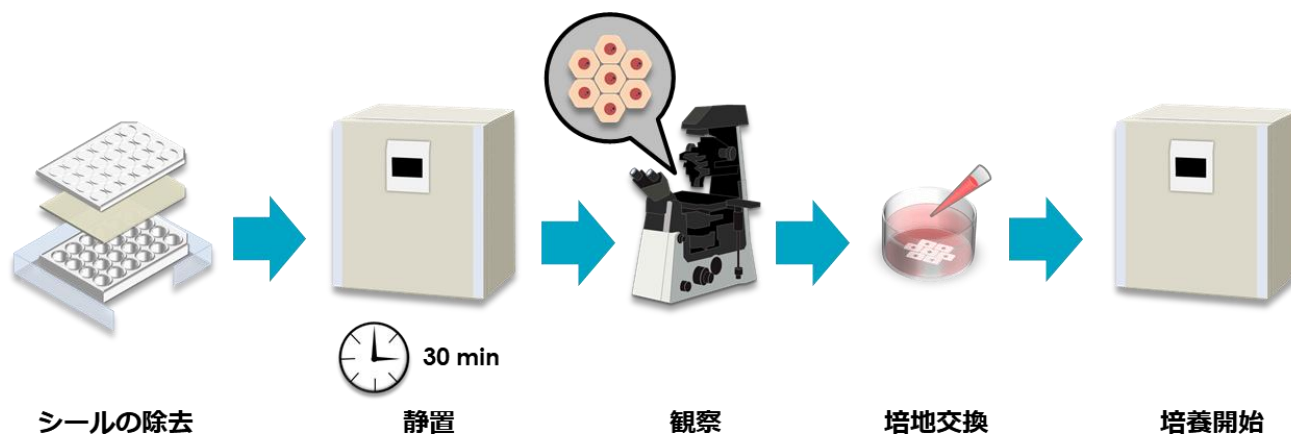
PXB-cells LA をお受け取りいただいた後の主要な操作には以下の 3 項目が含まれます。

- ・ 受領時の操作
- ・ 維持培養
- ・ 分析培養

以上の操作は、いずれもクリーンベンチなどの清浄度が確保された場所でお取り扱いいただくようお願いいたします。

受領時の操作

1. 培地漏出防止用のプラスチックパラフィンフィルムおよびシリコンシートを除去します。
2. CO₂ インキュベーター内で約 30 分静置します。
3. 細胞状態を顕微鏡にて確認します。
4. 輸送用の培地を全量除去し、1 ウェルあたり 0.5 mL の PXB-cells 用培地を添加します。
5. CO₂ インキュベーターで培養します。



- ・日本国内では通常当社からの発送翌日に受領いただけます。まれに輸送に2日かかる場合がございますが、PXB-cells LAの脂質プロファイルに影響はございません。
- ・受領時に培地が少量漏れていた場合においても、細胞が乾燥していなければご使用いただくことが可能です。
- ・受領時の PXB-cells LA の状態が悪い場合（剥離等の異常が観察された場合）、顕微鏡写真を撮影していただいたうえで、当社までお問い合わせ下さい。当社では品質チェックのため、製品と同じロットの細胞を維持しておりますので、その細胞の状態を踏まえて対応いたします。

維持培養

1. PXB-cells 用培地を 37°C（室温以上）に加温します。
2. CO₂ インキュベーターからプレートを取り出します。
3. 古い培養上清を回収または廃棄し、1 ウェルあたり 0.5 mL の PXB-cells 用培地に交換します。
4. CO₂ インキュベーターで培養します。
5. 分析培養開始まで、3～5 日間に 1 回の頻度で培地交換（手順 2～4）を繰り返します。

- ・分析に使用するまでの維持培養には、PXB-cells 用培地（PPC-M100 / PPC-M200）をご使用ください。
- ・PXB-cells 用培地を冷蔵温度（2～8°C）で細胞に直接添加すると、細胞状態を悪化させる恐れがあります。添加前に 37°C（室温以上）に加温することを推奨いたします。
- ・維持培養時の培地液量は 1 ウェル当たり 0.5 mL としてください。
- ・指定頻度（3～5 日間に 1 回）を外れて培地交換を行われた場合、脂質プロファイルが変化することがあります。
- ・培地交換にあたり、急激な培地の除去、または細胞面への培地の直接添加により、細胞シートが剥離する場合があります。マイクロピペットを使用し、緩やかな培地除去、ウェル壁面からの穏やかな培地添加を推奨いたします。

分析培養

1. 分析用培地を準備します。
2. CO₂ インキュベーターからプレートを取り出します。
3. 古い培養上清を回収または廃棄し、分析用培地に交換します。
4. CO₂ インキュベーターで培養します。
5. 指定時間培養後、CO₂ インキュベーターからプレートを取り出し、培養上清または細胞サンプルを各分析にご使用いただけます。

- ・培養上清中コレステロール・中性脂肪量

分析用培地は William's E Medium no Phenol Red に Primary Hepatocyte Maintenance Supplements を商品の添付文書に従い指定量加えたものを推奨しております。

また、各脂質量の測定には LipoCULTURE（株式会社 免疫生物研究所）などをご使用いただけます。

- ・培養上清中ヒトアルブミン量

培養上清中のヒトアルブミン量の変動は、細胞ヘルスの一つの指標となります。

- ・細胞質内脂質量

コレステスト®TG および CHO を（積水メディカル株式会社）ご利用頂けます。

詳細につきましては、アプリケーションノートをご参照ください。

- ・核酸およびタンパク質抽出

核酸およびタンパク質を抽出される場合、細胞を Trypsin-EDTA などプレートから剥がした後に抽出試薬で処理を行うと、収量が著しく悪くなる場合があります。ウェルに抽出試薬を直接添加した後に処理を行う事を推奨いたします。

ご不明な点がございましたら、当社までお問い合わせください。

お問い合わせ先

株式会社フェニックスバイオ

本社：広島県東広島市鏡山 3 丁目 4 番 1 号

TEL：082-431-0016 FAX：082-431-0017

E-mail：pxb-cells@phoenixbio.co.jp

<https://phoenixbio.co.jp>